BULLETIN DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
3e série, nº 126, mars-avril 1973, Botanique 6

La morphogenèse prothallienne d'une Fougère, *Gymnogramme sulphurea* Desv. sous l'influence d'une hormone sexuelle animale : l'œstradiol

par Josette Montardy-Pausader *

Résumé. — De l'analyse comparative du développement du gamétophyte de *Gymnogramme sulphurea* Desv. en présence ou non d'œstradiol animal, il ressort que cette hormone a un effet progressif sur la morphogenèse prothallienne, en fonction de la concentration utilisée.

Peu influente à 10^{-8} et 10^{-9}, elle est responsable d'une auxèse cellulaire à 10^{-7} de même qu'à 10^{-6}. A cette dernière concentration, après avoir accéléré la germination, cette hormone provoque un retard dans l'accomplissement des différentes phases de l'édification prothallienne ; tout spécialement en rendant difficile la mise en place du méristème, elle retarde la différenciation des archégones. Les concentrations 10^{-5} et surtout 10^{-4} ne permettent pas un développement complet du gamétophyte.

Abstract. — From comparative analysis of the development of juvenile prothallium of *Gymnogramme sulphurea* Desv. in the presence of animal œstradiol and in an hormone free medium, it results in the fact that this hormone has a progressive effect on prothallus morphogenesis, which depends on the concentration for which it is used.

It is uninfluential when it is 10^{-8} and 10^{-9} and it is responsible when 10^{-7} and 10^{-6} of cellular auxesis. When 10^{-6} after having caused an acceleration of germination it causes a delay in the accomplishment of the different phases of the prothallus edification, rendering difficult the placing of the meristem, the differenciation of the archegonia being then delayed.

The concentration 10^{-5} and chiefly 10^{-4} seem to be incompatible with an complete development of juvenile prothalli.

Depuis Löve et Löve (1945), de nombreux auteurs, parmi lesquels citons Colonval-Elenkova (1960), Milcou (1966), Kopcewicz (1971), Gawienowski, Cheney et Marsh (1971), Yanagishima (1972), s'intéressent à l'existence et au rôle chez les plantes d'hormones sexuelles s'apparentant à celles rencontrées chez les animaux, mais la plupart de leurs travaux se rapportent aux Angiospermes. Nous-même dans le cadre d'une étude de l'expression sexuelle chez les Ptéridophytes, avons entrepris des recherches sur l'influence des hormones sexuelles animales sur le gamétophyte (Laroche *et al.*, 1972) ; nous nous proposons de présenter ici quelques-uns des résultats ayant trait à l'action de l'œstradiol sur le gamétophyte d'une Filicinée Leptosporangiée, *Gymnogramne sulphurea* Desv.

* *Laboratoire de Biologie végétale appliquée, 61, rue de Buffon, 75005 Paris.*

Techniques

Les spores sont ensemencées sur milieu minéral (DIÉTAL dilué au demi) de composition voisine de la solution de Knop, enrichi en oligo-éléments et solidifié par adjonction de 0,5 % d'agar DIFCO. Les cultures réalisées en tube sont maintenues à température ambiante sous un éclairement continu de 1 500 lux environ.

L'hormone est ajoutée au milieu encore liquide sous forme d'une solution alcoolique ; ses effets sont testés pour des valeurs de concentrations de 10^{-4} jusqu'à 10^{-9}.

Des cultures témoins ont été parallèlement réalisées d'une part sur le milieu de base, d'autre part sur le milieu additionné d'éthanol, solvant de l'hormone.

Résultats

Leur présentation sera faite en fonction des étapes morphogénétiques définies par Guervin (1971). Rappelons à ce propos qu'après la germination se développe un filament protonématique, dont les cellules sous-apicales initient la palette d'une lame prothallienne spatulée, où l'on distingue une zone marginale à partir de laquelle s'ébauchera, en position latérale, un méristème qui sera à l'origine de la lame prothallienne cordiforme. Le gamétophyte apparaît finalement constitué d'une lame prothalienne cordiforme qui porte les vestiges de la lame prothallienne spatulée et du filament protonématique.

Comparons maintenant le développement des gamétophytes en présence d'hormone.

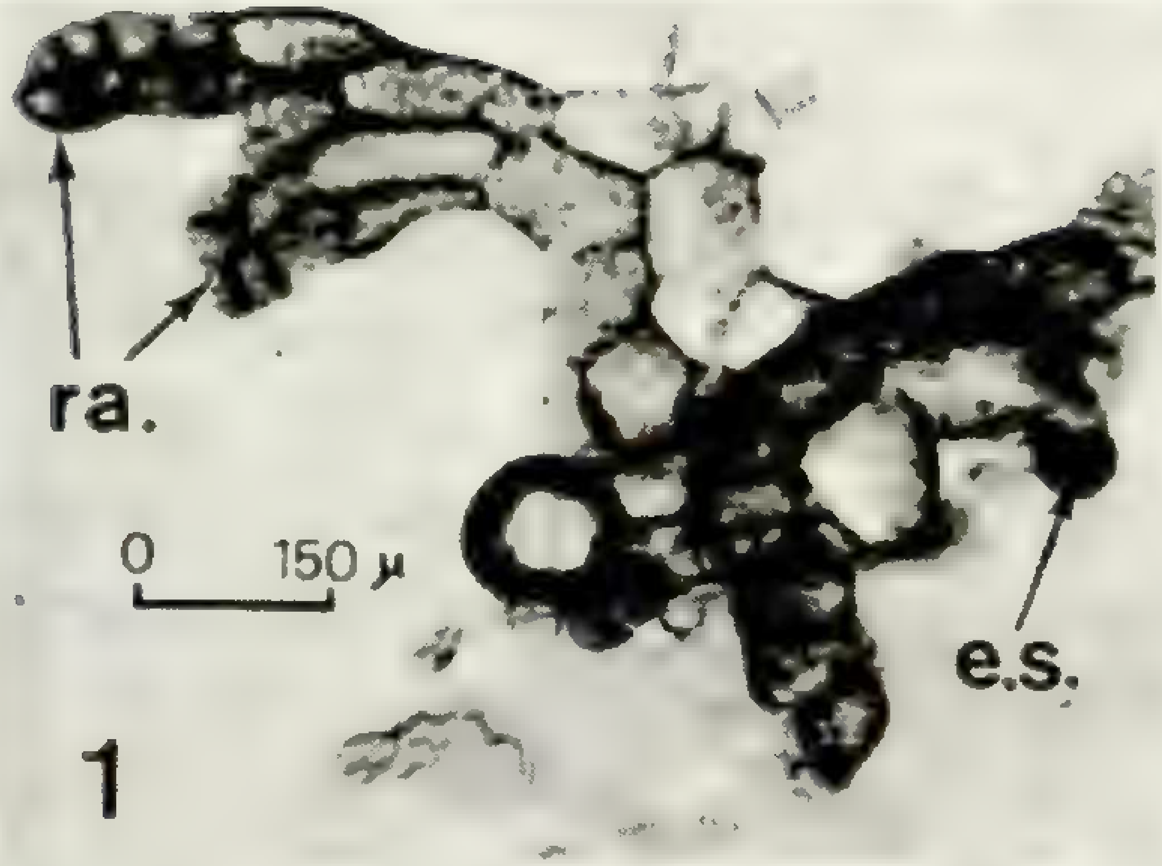
Les cultures témoins additionnées d'alcool montrent que :

— les concentrations d'éthanol inférieures à 1 %, utilisées lors de l'adjonction de l'hormone, n'ont pas d'effet significatif sur le développement prothallien ;

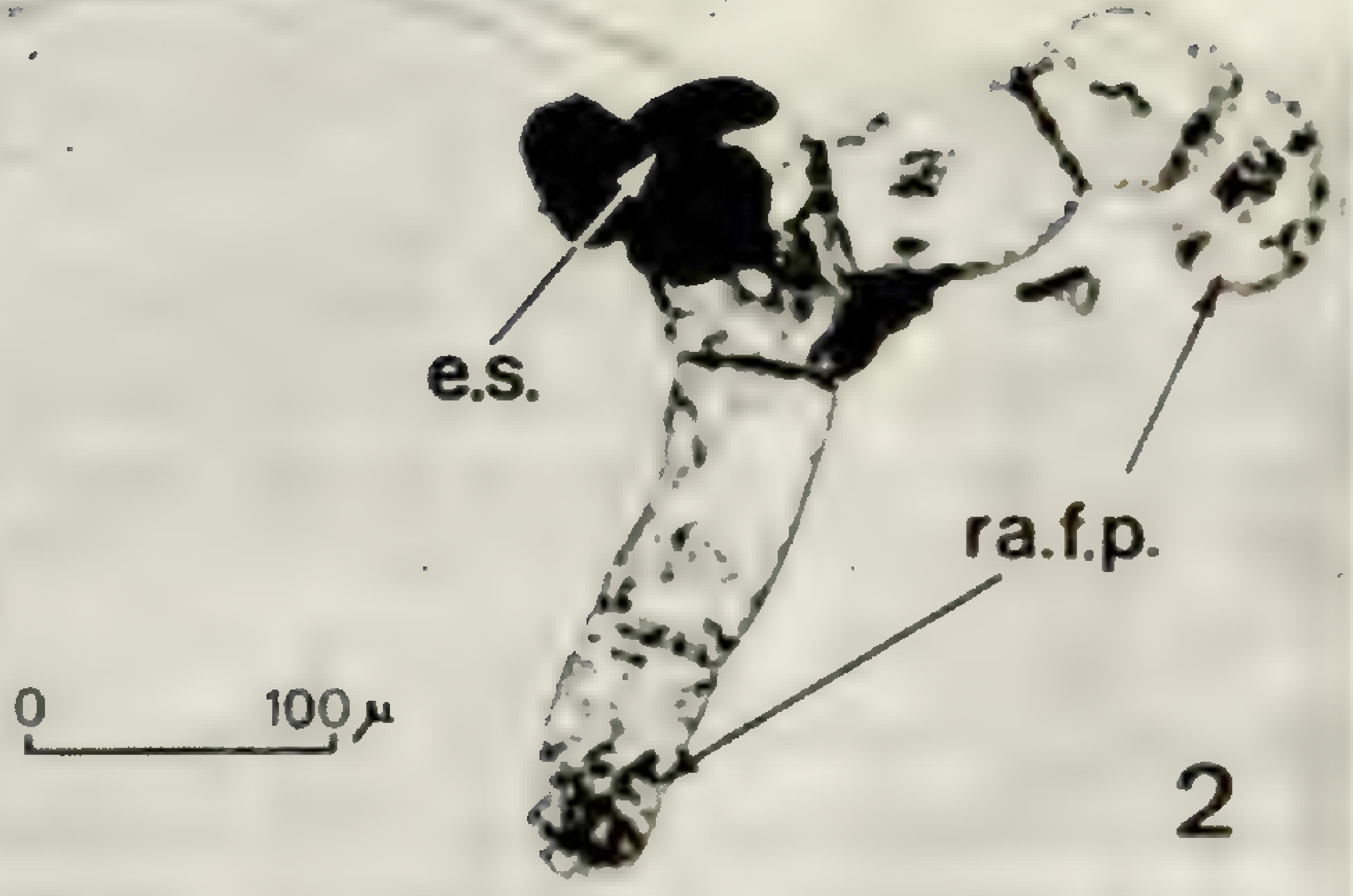
— à 1 %, degré alcoolique des milieux de cultures contenant la dose maximale d'hormone (10^{-4}), la germination est retardée, le gamétophyte se ramifie (pl. I, 5) et la différenciation sexuelle, identique à celle des témoins sans alcool, est différée d'une quinzaine de jours.

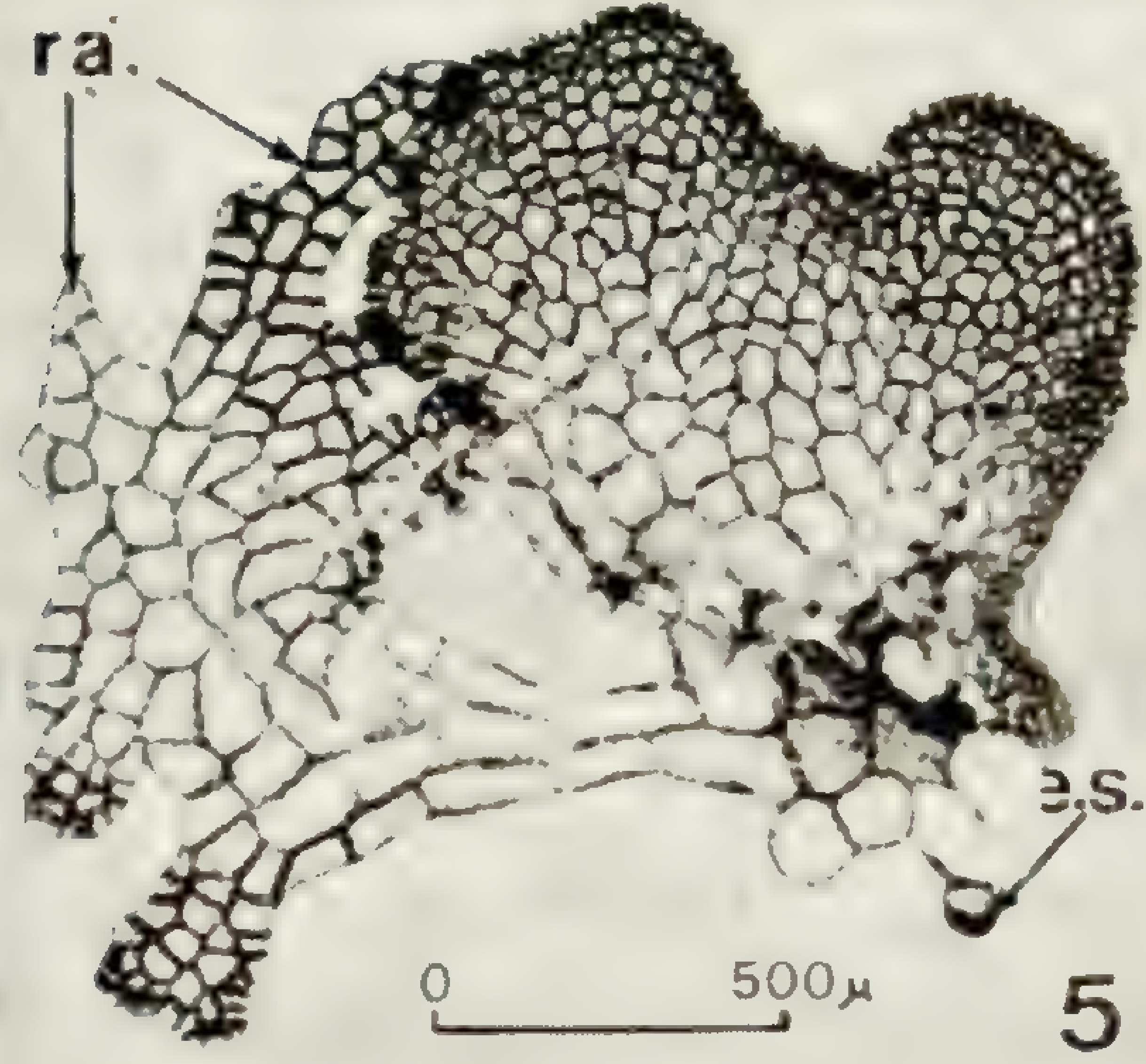
PLANCHE I

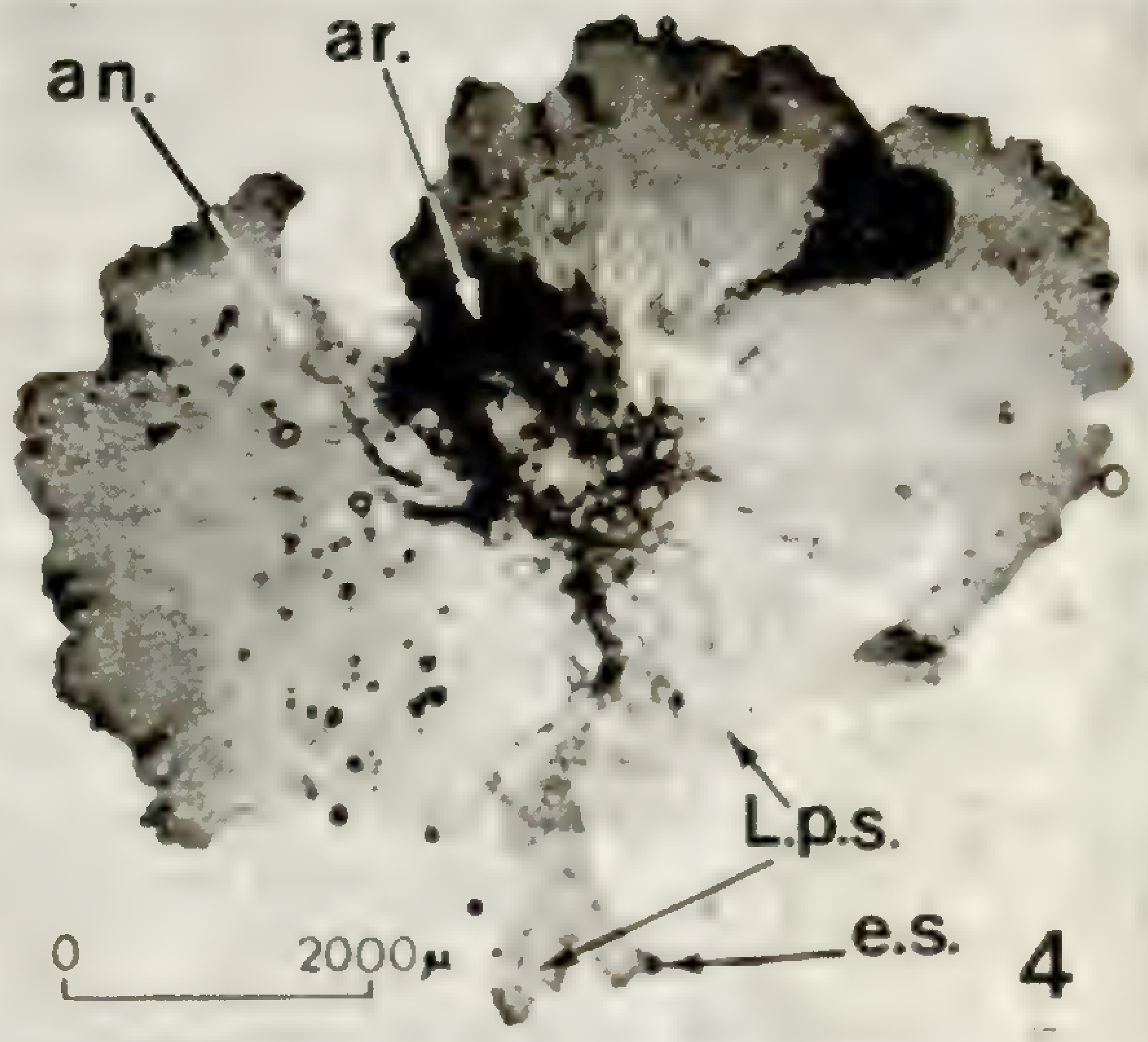
1. — Lame prothallienne spatulée de 13 jours (10^{-7}g/ml d'œstradiol) avec de nombreuses ramifications (*ra.*) du gaméthophyte ; *e.s.*, enveloppe sporale.
2. — Filament protonématique de 27 jours (10^{-5}g/ml d'œtradiol) avec des ramifications du gamétophyte. *ra.f.p.*, ramifications du filament protonématique ; *e.s.*, enveloppe sporale.
3. — Lame prothallienne spatulée de 14 jours (10^{-6}g/ml d'œstradiol). *z.m.*, zone marginale hétérogène ; *e.s.*, enveloppe sporale.
4. — Prothalle de 35 jours (10^{-7}g/ml d'œstradiol). *ar.*, archégones ; *an.*, anthéridies ; *e.s.*, enveloppe sporale ; *L. p.s.*, lame prothallienne spatulée.
5. — Prothalle de 21 jours dont l'une des nombreuses ramifications tend à devenir cordiforme, témoins avec alcool à 1 % ; *ra.*, ramifications ; *e.s.*, enveloppe sporale.
6. — Prothalle de 26 jours (10^{-6}g/ml d'œstradiol) montrant de nombreuses ramifications dont l'une devient cordiforme. *L.p.s.*, lame prothallienne spatulée ; *ar.*, archégones.
7. — Prothalle de 40 jours dont aucune ramification ne présente encore d'initiation de la lame prothallienne cordiforme (10^{-6}g/ml d'œstradiol) et ne portant exclusivement que des anthéridies. *ra.p.*, ramifications du prothalle ; *an.*, anthéridies.

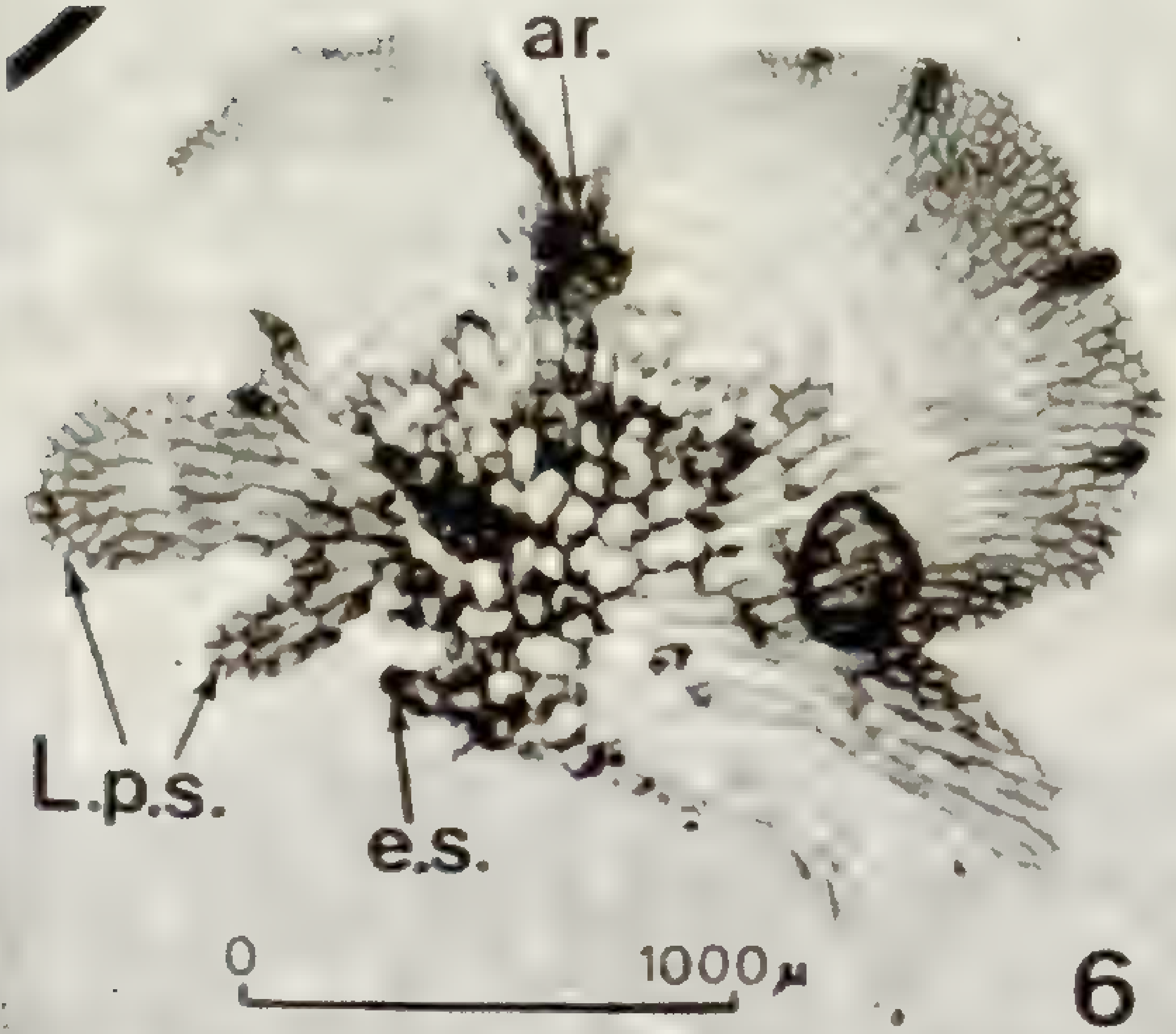

ra.
0 150 µ
e.s.
1

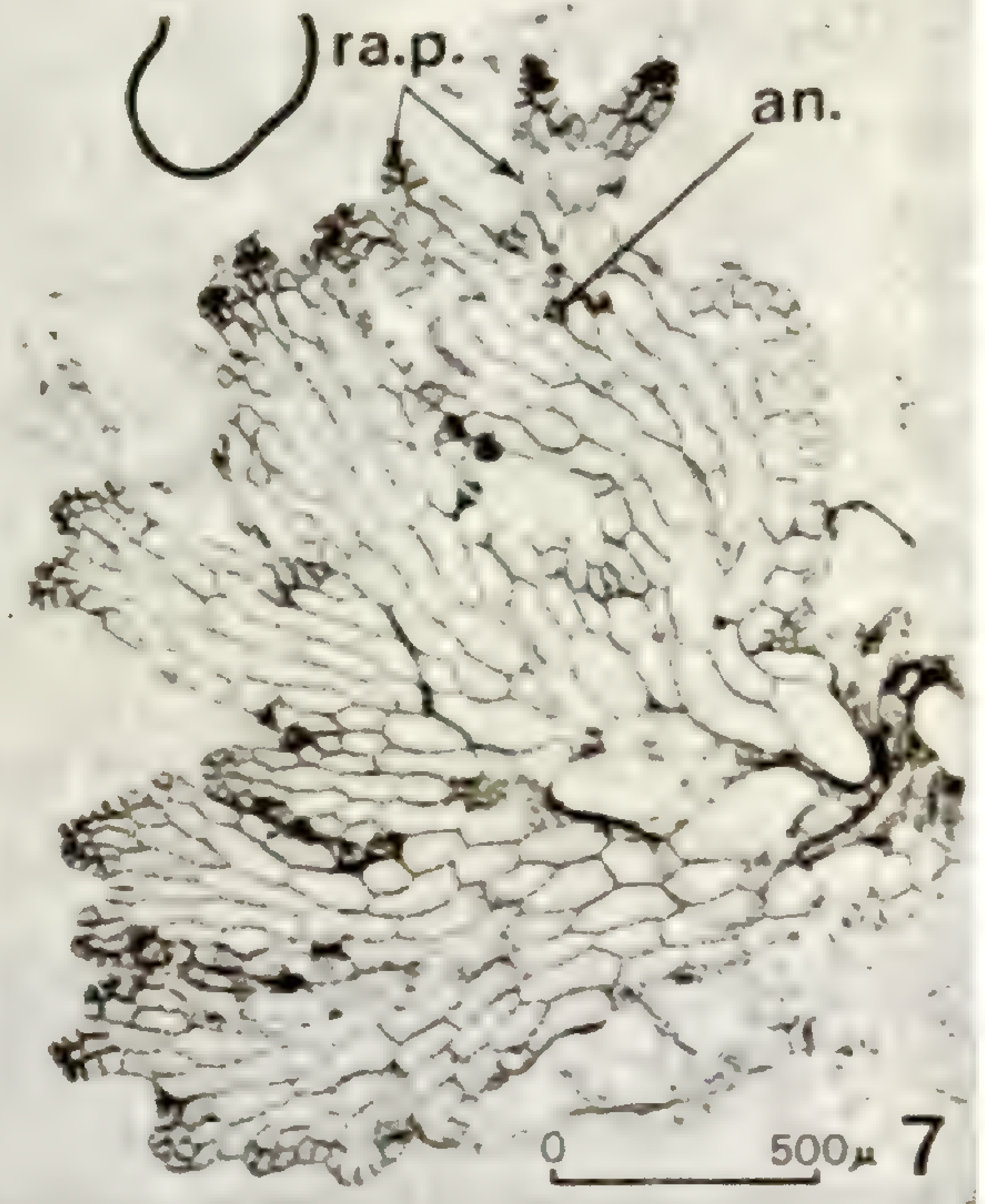

e.s.
ra.f.p.
0 100 µ
2


e.s.
z.m.
3
0 200 µ


an.
ar.
L.p.s.
e.s.
0 2000 µ
4


ra.
e.s.
0 500 µ
5


ar.
L.p.s.
e.s.
0 1000 µ
6


ra.p.
an.
0 500 µ
7

La germination. — Les doses hormonales faibles (10^{-9}, 10^{-8}) influencent peu la germination, si bien que 4 jours après l'ensemencement, à l'exemple des témoins, 40 % des spores ont germé. Avec des doses de 10^{-7} et 10^{-6}, le pourcentage de germination atteint 70 % dans le même intervalle de temps. A 10^{-5}, il faut attendre 9 jours et, à 10^{-4}, 25 jours avant d'observer les premières spores germées ; les pourcentages oscillent autour de 20 % et, pour la dernière valeur, les spores germées ne tardent pas à dégénérer.

Le filament protonématique. — Achevé au 9e jour chez les témoins sans alcool, ce stade est d'autant plus long que les taux d'hormone sont plus importants ; ainsi de 9 jours à 10^{-9}, il dure jusqu'à 11 jours à 10^{-6}. Toutefois jusqu'à 10^{-6} le filament présente le même aspect que celui des témoins. Par contre à 10^{-5}, trois faits affectent le développement : durée prolongée jusqu'à 25-27 jours, présence de ramifications et croissance cellulaire supérieure à celle des témoins et des individus traités par des doses plus faibles (pl. I, 2).

La lame prothallienne spatulée. — Chez les témoins sans alcool, son évolution se place entre le 9e et le 14e jour. Chez les plantes traitées, le développement morphologique est plus lent : entre 10^{-9} et 10^{-6}, 5 jours supplémentaires sont nécessaires et, à 10^{-5}, ce n'est qu'après 27 jours qu'apparaissent les lames prothalliennes spatulées, qui représentent d'ailleurs pour cette dernière concentration le terme ultime du développement du gamétophyte. Dans tous les cas après traitement, la spatule présente l'installation d'une zone marginale à cellules de tailles irrégulières, à l'encontre de ce qui s'observe chez les témoins ; ce phénomène a pour conséquence le développement de ramifications (pl. I, 1 et 3) ; de plus, le reste du filament protonématique est composé de cellules subissant un allongement sensible.

La lame prothallienne cordiforme. — Chez les témoins sans alcool, son aspect définitif, amorcé vers le 15e jour, est acquis vers le 35e jour ; d'abord femelle (21e jour), cette lame cordiforme devient hermaphrodite au 26e jour et les sporophytes apparaissent à compter du 40e jour.

L'adjonction d'hormone à la concentration de 10^{-6} provoque chez bon nombre de prothalles de nombreuses ramifications (pl. I, 7) dont l'une peut acquérir l'allure cordiforme en une vingtaine de jours (pl. I, 6). Accompagnant ces phénomènes morphologiques, on doit retenir, quant à la sexualité, la mise en place des seules anthéridies (*an.*, pl. I, 7) tant que le gamétophyte n'est que digité, et l'apparition des archégones (*ar.*, pl. I, 6) sur le coussinet dès que la lame prothallienne cordiforme s'est développée.

Pour des individus traités par concentrations plus faibles (10^{-9} à 10^{-7}) ces phénomènes s'estompent et les gamétophytes se comportent de plus en plus comme les témoins, les restes de la lame prothallienne et du filament protonématique étant toutefois assez fortement développés (pl. I, 4).

Discussion — Conclusion

Dégageons les faits essentiels se rapportant au développement cyto-morphogénétique et à l'apparition des organes sexuels d'un prothalle monoïque d'une Fougère, après action d'une hormone sexuelle, l'œstradiol.

Tout d'abord, il faut remarquer que les effets de l'hormone sont progressifs en fonction des diverses concentrations utilisées. En effet, si les concentrations les plus faibles n'apportent que peu (10^{-8}) ou pas (10^{-9}) de modifications par rapport au témoin, les concentrations les plus fortes (10^{-5} et surtout 10^{-4}) apparaissent incompatibles avec un développement complet du gamétophyte. Les effets de l'hormone aux concentrations de 10^{-7} et 10^{-6} nous paraissent significatifs :

— à 10^{-7}, au niveau cytologique puisque l'œstradiol est responsable d'une auxèse cellulaire.

— à 10^{-6}, au niveau cytologique et morphologique, puisque, outre l'action auxésique, on révèle des modifications à l'échelle prothallienne, la morphogenèse et la sexualité étant bouleversées. A cette concentration, nous avons montré que l'action hormonale est double : d'abord bénéfique en favorisant la germination, elle apparaît ensuite néfaste en provoquant un retard dans l'accomplissement des différentes phases morphogénétiques présidant à la réalisation du prothalle adulte. Ce dernier effet semble trouver son explication dans le fait que le méristème ne s'installe que très tardivement après le développement de ramifications gamétophytiques. Du point de vue sexuel, la différenciation des anthéridies ne paraît pas être affectée ; par contre, celle des archégones est retardée jusqu'au moment de l'apparition d'un coussinet.

L'œstradiol, par son action morphogénétique se traduisant par une mise en place difficile du méristème, affecte l'apparition des archégones et met ainsi en lumière les corrélations existant entre la morphologie prothallienne et la sexualité.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

COLONVAL-ELENKOVA, E., 1960. — Observations et expériences sur la sexualisation du prothalle de *Lygodium japonicum* S. W. en milieu stérile et conditionné. *Bull. Soc. r. Sci. Liège*, **29** : 281-297.

GAWIENOWSKI, A. M., R. W. Jr. CHENEY et H. V. MARSH, 1971. — Alteration of sex expression in the cucumber by testosterone and oestradiol. *Phytochem.*, **10** : 2020-2034.

GUERVIN C., 1971. — Contribution à l'étude d'une Polypodiacée : le *Gymnogramme sulphurea* Desv. I. Cytomorphogenèse du gamétophyte. *Rev. Gén. Bot.*, **78** : 5-51.

KOPCEWICZ, J., 1971. — Influence of steroidal hormones on flower sex expression in *Ecballium elaterium* (L.) A. Rich. *Zeit. Pflanzenphysiol.*, **65** : 92-94.

LAROCHE, J., J. P. FOUQUET, C. GUERVIN, C. LE COQ et J. MONTARDY-PAUSADER, 1972. — Influence d'une hormone animale (la testostérone) sur la sexualité des prothalles de l'*Equisetum arvense* L. *C. r. Acad. Sci., Paris*, **274** : 2887-2888.

LÖVE, A., et D. LÖVE, 1945. — Experiments on the effects of animal sex hormones on dioecious plants. *Ark. Bot.*, **22** : 1-60.

MILCOU, S. M., 1966. — Contributions de l'école Roumaine d'endocrinologie à l'étude de l'action des hormones animales sur les plantes. *Rev. Roum. Biol. Bot.*, **2** : 339-343.

YANAGISHIMA, N., 1971. — Induced production of a sexual hormone in yeast. *Physiol. plant.*, **24** : 260-263.

Manuscrit déposé le 11 octobre 1972.